

UNIVERSIDADE DE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO PRÉVIA À PROGESTERONA
INJETÁVEL (P4i) EM VACAS DA RAÇA NELORE NO CRESCIMENTO
FOLICULAR E FERTILIDADE, SUBMETIDAS AO PROTOCOLO DE
IATF**

HENRIQUE PASSOS TABOSA

VILA VELHA
JUNHO/2022

UNIVERSIDADE DE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO PRÉVIA À PROGESTERONA
INJETÁVEL (P4i) EM VACAS DA RAÇA NELORE NO CRESCIMENTO
FOLICULAR E FERTILIDADE, SUBMETIDAS AO PROTOCOLO DE
IATF**

Dissertação apresentada à Universidade de Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

HENRIQUE PASSOS TABOSA

VILA VELHA
JUNHO/2022

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

T114a Tabosa, Henrique Passos.
Avaliação da exposição prévia à progesterona injetável (P4i) em vacas da raça nelore no crescimento folicular e fertilidade, submetidas ao protocolo de IATF / Henrique Passos Tabosa – 2022.
47 f. : il.

Orientador: Maurício Gomes Favoreto.
Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Universidade Vila Velha, 2022.
Inclui bibliografias.

1. Medicina veterinária. 2. Nelore - Bovino. 3. Inseminação artificial. I. Favoreto, Maurício Gomes. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.89

HENRIQUE PASSOS TABOSA

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO PRÉVIA À PROGESTERONA
INJETÁVEL (P4i) EM VACAS DA RAÇA NELORE NO CRESCIMENTO
FOLICULAR E FERTILIDADE, SUBMETIDAS AO PROTOCOLO DE
IATF**

Dissertação apresentada à Universidade de Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Aprovado em 30 de junho de 2022.

Banca examinadora:



Prof.(a). Dr.(a). Bárbara Loureiro (UVV)



Dr. Ronaldo Ereno
CRMV-SP 9489

Prof. Dr. Ronaldo Luis Ereno (UNESP)



**Prof. Dr. Maurício Gomes Favoreto (UVV)
(Orientador)**

*Dedico esse trabalho à minha
querida mãe Maria Angela
Coelho Passos e à minha filha
Beatriz que está perto de
nascer me enchendo de forças
para alcançar meus objetivos.*

AGRADECIMENTOS

Minha gratidão à Deus por ser a luz que me guia nos momentos mais difíceis e Nossa Senhora minha intercessora.

À minha querida mãe Dra. Angela pelo esforço e dedicação durante minha criação, com certeza sem ela não teria chegado até aqui.

À minha noiva Gabriele por todo apoio e carinho nos momentos mais difíceis da minha vida.

À Júlia minha querida mãezinha de criação a qual me amparou durante todas as fases de minha vida.

Ao meu orientador professor Maurício por toda compreensão e ajuda durante todo período de estudos até a execução final do projeto, sem ele nada disso seria possível.

Ao Odael que abriu as portas para que fizéssemos uma coleta de dados eficiente na propriedade de sua família.

Ao Elyan futuro colega de profissão que nos deu suporte durante algumas coletas.

Enfim, meu eterno agradecimento a todos vocês que fizeram parte desta jornada.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
ABREVIATURAS E SIGLAS	10
LISTA DE FIGURAS	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 DINÂMICA FOLICULAR	15
2.2 ANESTRO PÓS-PARTO.....	17
2.3 PROTOCOLOS DE IATF.....	20
2.4 SUPLEMENTAÇÃO COM PROGESTERONA.....	22
2.4.1 <i>Dispositivo intravaginal de liberação de progesterona</i>	23
2.4.2 <i>Progesterona injetável</i>	24
3 HIPÓTESES.....	26
4 OBJETIVO.....	27
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
5.1 ANIMAIS	28
5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	28
5.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	29
6 RESULTADOS	31
7 DISCUSSÃO	38
8 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

RESUMO

TABOSA, Henrique Passos, M. Sc., Universidade de Vila Velha – ES, junho de 2022.
Avaliação da exposição prévia à progesterona injetável (P4i) em vacas da raça Nelore no crescimento folicular e fertilidade, submetidas ao protocolo de IATF.
Orientador: Maurício Gomes Favoreto.

O objetivo do projeto é avaliar a aplicação de P4i em vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) no período pós-parto dez dias antes do início do protocolo de IATF à base de P4 e E2, no crescimento folicular, assim como, na taxa de prenhez com o auxílio da US. Foram utilizadas 436 matrizes, sendo 253 multíparas e 183 primíparas que apresentavam ECC entre 2,5 e 4,5 (escala 1 a 5) no início do protocolo de IATF. As vacas foram divididas em dois grupos aleatoriamente, grupo P4i que receberam aplicação de P4i (Sincrogest®) na dose de 150 mg dez dias antes (D -10) do início do protocolo de IATF, e, grupo Controle que não recebeu nenhum tratamento anterior ao protocolo. No D 10, em 53 multíparas e 7 primíparas foi realizado US para mensurar o diâmetro do FD. Na análise feita entre os grupos, a taxa de prenhez foi maior nas vacas do grupo Controle em comparação com o grupo P4i ($p < 0,05$). Em relação à categoria animal, a taxa de prenhez foi maior nas multíparas em comparação com as primíparas ($p < 0,05$). Na comparação da taxa de prenhez entre os grupos (Controle e P4i) da mesma categoria animal (Multíparas e Primíparas) não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Ao analisar a taxa de prenhez em relação ao ECC não houve diferença significativa ($p > 0,05$), entretanto, a cada ponto na escala aumenta 1,43 vezes a chance de engravidar ($OR = 1,433$). Na avaliação do crescimento folicular, não houve diferença ($p > 0,05$) quando comparado o diâmetro do FD no D 10 entre vacas prenhas e vazias, como também, entre os grupos Controle e P4i. Em conclusão, a administração de 150 mg de P4i dez dias antes do início do protocolo de IATF não alterou o diâmetro do FD no dia da IATF. A taxa de prenhez foi maior no grupo Controle quando comparado com grupo P4i, porém não houve diferença quando comparada entre os grupos (Controle e P4i) da mesma categoria animal (Multíparas e Primíparas). Em relação ao ECC, apesar dos resultados não serem considerados significativos, a cada ponto na escala (1 a 5) aumenta 1,43 vezes a chance de prenhez. A categoria animal influenciou a fertilidade sendo maior nas multíparas.

Palavras-chave: Progesterona injetável, IATF, dinâmica folicular, fertilidade, Nelore.

ABSTRACT

TABOSA, Henrique Passos, M. Sc., Universidade de Vila Velha – ES, June de 2022.
Evaluation of previous exposure to injectable progesterone (P4i) in Nelore cows on follicular growth and fertility, submitted to the FTAI protocol. Orientador: Maurício Gomes Favoreto.

The objective of the project is to evaluate the application of P4i in Nelore cows (*Bos indicus*) in the postpartum period ten days before the beginning of the FTAI protocol based on P4 and E2, in follicular growth, as well as in the rate of pregnancy with the help of U/S. A total of 436 sows were used, 253 of which were multiparous and 183 primiparous that had an BCS between 2,5 and 4,5 (scale 1 to 5) at the beginning of the FTAI protocol. The cows were randomly divided into two groups, the P4i group that received application of P4i (Sincrogest®) at a dose of 150 mg ten days before (D -10) the beginning of the FTAI protocol, and the Control group that did not receive any treatment prior to the protocol. On D 10, US was performed in 53 multiparous and 7 primiparous women to measure the diameter of the FD. In the analysis performed between groups, the pregnancy rate was higher in cows in the Control group compared to the P4i group ($p < 0.05$). Regarding the animal category, the pregnancy rate was higher in multiparous compared to primiparous ($p < 0.05$). Comparing the pregnancy rate between groups (Control and P4i) of the same animal category (Multiparous and Primiparous) there was no significant difference ($p > 0.05$). When analyzing the pregnancy rate in relation to the BCS, there was no significant difference ($p > 0.05$), however, at each point on the scale, the chance of becoming pregnant increases 1.43 times (OR = 1.433). In the evaluation of follicular growth, there was no difference ($p > 0.05$) when comparing the diameter of the LF on D 10 between pregnant and empty cows, as well as between the Control and P4i groups. In conclusion, administration of 150 mg of P4i ten days before the start of the FTAI protocol did not change the diameter of the DF on the day of the FTAI. The pregnancy rate was higher in the Control group when compared to the P4i group, but there was no difference when compared between the groups (Control and P4i) of the same animal category (Multiparous and Primiparous). Regarding the ECC, although the results are not considered significant, each point on the scale (1 to 5) increases the chance of pregnancy by 1.43 times. The animal category influenced fertility, being higher in multiparous women.

Keywords: Injectable progesterone, FTAI, follicular dynamics, fertility, Nelore.

ABREVIATURAS E SIGLAS

BE	Benzoato de estradiol
BHB	Beta-hidroxibutirato
CEPEA	Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
CFAs	Contagem de folículos antrais
CL	Corpo lúteo
DILP	Dispositivo intravaginal de liberação de progesterona
E2	Estradiol
ECC	Escore de condição corporal
ECP	Cipionato de estradiol
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ESR1	Receptor de estógeno 1
FD	Folículo dominante
FS	Folículo subordinado
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IGF-I	Fator de crescimento tipo insulina 1
IGFBP	Proteínas ligadoras do fator de crescimento semelhante à insulina
INF- τ	Interferon tau
LH	Hormônio luteinizante

MGA	Acetato de melengestrol
NEFA	Ácidos graxos não esterificados
P4	Progesterona
P4i	Progesterona injetável
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
PIB	Produto Interno Bruto
US	Ultrassonografia

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Delineamento experimental – Protocolos de IATF grupo P4i / grupo Controle, ultrassonografia (US) e diagnóstico de gestação (DG).29
- Figura 2.** Taxa de prenhez (%) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de IATF baseado em E2 e P4. Comparação entre os grupos Controle e P4i. A diferença foi considerada estatisticamente significativa $p < 0,05$32
- Figura 3.** Taxa de prenhez (%) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de IATF baseado em E2 e P4. Comparação entre categoria animal (Múltiparas e Primíparas). A diferença foi considerada estatisticamente significativa $p < 0,05$33
- Figura 4.** Taxa de prenhez (%) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de IATF baseado em E2 e P4. Comparação entre os grupos Controle e P4i em relação à categoria animal (Múltiparas e Primíparas). Não houve diferença significativa $p > 0,05$34
- Figura 5.** Taxa de prenhez (%) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de IATF baseado em E2 e P4 em relação com o ECC ($\geq 2,0 < 3,0$; $\geq 3,0 < 4,0$; e $\geq 4,0$). Não houve diferença significativa $p > 0,05$. OR (ODDS Ratio) = 1,433.35
- Figura 6.** Diâmetro (\emptyset) do folículo dominante (FD) no D 10 do protocolo de IATF em vacas Nelore (*Bos indicus*). Comparação entre as médias de acordo com o diagnóstico de gestação (vacas prenhas e vazias). Não houve diferença significativa $p > 0,05$36
- Figura 7.** Diâmetro (\emptyset) do folículo dominante (FD) no D 10 do protocolo de IATF em vacas Nelore (*Bos indicus*). Comparação entre os grupos Controle e P4i. Não houve diferença significativa $p > 0,05$37

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o agronegócio exerce um papel crucial na economia global, sendo que, no Brasil, 27,4% do PIB é representado pela atividade (CEPEA, 2022). O país concentra 30,6% do rebanho de corte mundial e ocupa o segundo lugar na produção global de carne bovina com 16,8%, de acordo com um levantamento realizado por pesquisadores da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2021). Em países tropicais é mais comum a criação de raças zebuínas (*Bos indicus*), dentre elas o gado Nelore, devido sua adaptabilidade à temperatura mais elevada e umidade, no entanto, vacas criadas nessas condições apresentam alta incidência de anestro pós-parto, que aumenta o intervalo de concepção e, como consequência, afeta negativamente o desempenho reprodutivo (Baruselli et al., 2004).

O anestro pós-parto se distingue pelo período de inatividade sexual, sem manifestação de estro. Durante essa fase o aparelho reprodutivo se recupera da gestação anterior até que a funcionalidade do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal esteja preparado para a próxima gestação. Diversos autores sugerem que há queda na pulsatilidade do hormônio luteinizante (LH), levando a uma redução do crescimento final do folículo dominante e, posteriormente, ausência de ovulação. Vários fatores estão diretamente relacionados com o retorno da ciclicidade das fêmeas no pós-parto, como, restabelecimento da concentração do LH na hipófise, escore de condição corporal (ECC), presença do bezerro, amamentação, balanço energético negativo e efeito da presença do touro (Campos et al., 2012; Duarte Júnior et al., 2013; Montiel & Ahuja, 2005).

O aumento dos pulsos de LH é fundamental para o desenvolvimento folicular até a ovulação. No entanto, devido à amamentação e/ou baixo ECC, ocorre uma interação entre glicocorticoides, leptina, estradiol (E2) e neuro-hormônios (opioides e neuropeptídeo Y) inibindo os pulsos do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e, conseqüentemente, de LH durante o pós-parto em bovinos de corte (Gonçalves et al., 2015).

Visando o retorno precoce à ciclicidade diversos protocolos que controlam o desenvolvimento folicular e a ovulação usando GnRH ou E2 combinados com

dispositivo intravaginal de liberação de progesterona (DILP), oferecem a oportunidade de aplicar a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em rebanhos bovinos sem a necessidade de observação do estro e taxa de prenhez de 50% ou mais com apenas uma inseminação (Bó et al., 2016). Em tais protocolos, a progesterona (P4) retarda o estro e a ovulação. A remoção da fonte de P4 exógena leva a uma queda nas concentrações circulantes de P4 estimulando a cascata hormonal responsável pelo desenvolvimento folicular e ovulação (Zwiefelhofer et al., 2021).

Atualmente, o emprego desses tratamentos é muito bem definido, mas a eficiência é menor em vacas com baixo ECC no início do protocolo e em primíparas, devido à um crescimento final lento do folículo dominante, o que resulta em folículos menores na IATF. Portanto, tais indícios sugerem que em animais que não respondem aos protocolos de IATF, o período de exposição à P4 durante o protocolo pode ser insuficiente para aumentar a frequência dos pulsos LH necessários para a ovulação. A P4 bloqueia os receptores de E2 no hipotálamo diminuindo o feedback negativo sobre a produção de GnRH e consequentemente LH (Simões et al., 2018; Zwiefelhofer et al., 2021).

Técnicas de pré-sincronização hormonal utilizando P4, estão sendo testadas visando aumentar a fertilidade no gado de corte no período pós-parto. Simões et al. (2018) obtiveram resultados positivos com a utilização de P4i anterior ao protocolo de IATF à base de P4 e E2, sendo que houve aumento do diâmetro folicular e taxa de prenhez em vacas *Bos indicus* lactantes. No entanto, em outro estudo envolvendo a mesma equipe realizado por Santos et al. (2018), o tratamento prévio com P4i não melhorou a taxa de prenhez.

Sendo assim, o objetivo do projeto é avaliar a aplicação de P4i em vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) no período pós-parto dez dias antes do início do protocolo de IATF à base de P4 e E2, no crescimento folicular, assim como, na taxa de prenhez com o auxílio da ultrassonografia (US).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dinâmica folicular

A dinâmica folicular de vacas da raça Nelore é caracterizada pela presença de 2 ou 3 ondas foliculares durante o ciclo estral, e o surgimento de uma a terceira onda foi associada a uma fase lútea prolongada, sendo que, o folículo dominante (FD) viável presente no momento da luteólise tornou-se o folículo ovulatório (Figueiredo et al., 1997). O advento da US permitiu a coleta de muitas informações sobre os estágios do crescimento folicular e sua seleção. Cada onda envolve o recrutamento de uma série de folículos do total do estoque folicular do ovário, e a seleção de um FD, que continua a crescer e a amadurecer até o estágio pré-ovulatório enquanto os outros sofrem atresia (Adams et al., 2008).

No início da fase antral, os folículos crescem concomitantemente em resposta ao estímulo de hormônio folículo estimulante (FSH), durante este crescimento a capacidade de produzir E2 e inibina aumenta, que, por sua vez, irá suprimir a liberação de FSH da hipófise. Assim, o desvio é acionado rapidamente quando o FD atinge um diâmetro grande o suficiente para bloquear o FSH secreção. O rápido estabelecimento do mecanismo de dominância é importante para bloquear a crescimento do folículo subordinado (FS), que tem sua capacidade de assumir características de FD ou dominância prejudicada. Portanto, o FD continua seu crescimento estimulado pelo LH e o FS regride como resultado da baixa concentração de FSH ambiente (Martinez et al., 2018).

Em relação ao FD, o crescimento em dimensão e o aumento da produção de E2 são acompanhados por uma diminuição nos níveis de inibina, ativina e proteínas ligadoras do fator de crescimento semelhante à insulina (IGFBP), e aumento do fator de crescimento tipo insulina 1 (IGF-I) livre, o qual é capaz de estimular a proliferação e diferenciação das células da granulosa e o aparecimento de receptores de LH nestas células. Depois de estabelecida a dominância, se os níveis de P4 estiverem altos, inibindo assim a pulsatilidade do LH, o FD não irá ovular e entrará em atresia, iniciando uma nova onda folicular. Entretanto, quando os níveis de P4 estão baixos pela

regressão luteal, o FD tem seu crescimento terminal, liberando maiores quantidades de E2 para circulação sanguínea. O E2, através do feedback positivo, estimula os picos do GnRH, levando ao pico de LH e o folículo à ovulação. Caso não ocorra fecundação a prostaglandina F2 α (PGF2 α) é liberada pelo útero levando à luteólise e um novo ciclo se iniciará. Ocorrendo a fecundação, a secreção de interferon tau (INF- τ) tem seu pico entre 15 e 17 dias, que impede a liberação de PGF2 α pelo endométrio, mantendo o corpo lúteo (CL) e a produção de P4 (revisado por Neves et al., 2010).

Nas vacas leiteiras em lactação mais adequadamente alimentadas, há ovulação a partir do primeiro FD que se desenvolve 2 a 3 semanas após o parto. Em contrapartida, vacas de corte devidamente alimentadas em ambientes de clima temperado e tropical, o crescimento recorrente e regressão de vários FD's pode ocorrer antes da ovulação (Montiel & Ahuja, 2005). Vacas sob estresse nutricional apresentam baixo GnRH e, conseqüentemente, baixa frequência de pulso LH, resultando em menor folículos e ondas foliculares ovarianas sem ovulação ou com ovulação de um pequeno folículo. (Tortorella et al., 2013).

Os folículos bovinos têm maior capacidade de ovular quando atingem um diâmetro de aproximadamente 10 ou 12 mm (*Bos indicus* e *Bos taurus*, respectivamente) (Tortorella et al., 2013). Embora a maior fertilidade tenha sido observada em vacas que tiveram ovulações a partir de folículos maiores que 14,4 mm de diâmetro, notou-se que um limiar crítico para ovulação e prenhez em vacas *Bos indicus* submetidas à esses programas foi de pelo menos 11,1 mm. Além do aumento da ovulação, outros fatores como produção endógena de E2, competência oocitária, diâmetro do CL e a concentração de P4 no ciclo estral subsequente também resultariam da ovulação de um folículo maior que pode beneficiar a fertilidade de vacas de corte seguindo a IATF. A presença de folículos menores que 7,5 mm no dia da IATF resultou em redução taxa de ovulação e prenhez (Sá Filho et al., 2010).

Estudos recentes envolvendo a contagem de folículos antrais (CFAs) comprovaram que o diâmetro folicular foi, no entanto, maior no grupo com baixas CFAs durante o protocolo de IATF. Além disso, vacas com baixas CFAs tiveram uma taxa de prenhez maior do que os grupos com CFAs intermediários e altos, o que sugere que o número de folículos antrais pode influenciar no desempenho de bovinos de corte *Bos indicus* em programas de IATF. (Morotti et al., 2017; de Lima et al., 2020).

Existem várias hipóteses para explicar o maior diâmetro folicular observado em vacas com baixas CFAs. Uma possibilidade é que o grande número de folículos antrais proporcionou um ambiente mais competitivo através da ação hormonal, caso em que quanto mais resultado desejável em vacas com baixas CFAs pode ter sido resultado de uma ação aumentada de gonadotrofinas entre o menor número de folículos. Um FD que atinge um diâmetro maior após o desvio folicular tem um maior potencial ovulatório, resultando em maior CL e, conseqüentemente, maiores concentrações de P4. Em fêmeas *Bos indicus*, os folículos ovulatórios maiores detectados na IATF estão associados a uma maior probabilidade de prenhez (Morotti et al., 2017).

Portanto, um ambiente folicular que resulta em maiores diâmetros foliculares e oócitos mais competentes, com efeito positivo na fase lútea subsequente, podem impactar na sobrevivência embrionária, e assim, beneficiar a fertilidade de vacas de corte submetidas à IATF (de Lima et al., 2020).

2.2 Anestro pós-parto

Anestro é o estado de aciclicidade ovariana, sem manifestação de estro e qualquer atividade sexual. Nessa condição, mesmo com desenvolvimento folicular, nenhum dos folículos ovarianos que começam a crescer torna-se maduro o suficiente para ovular. Períodos prolongados de anestro pós-parto (> 150 dias) são característica dos bovinos *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* de regiões tropicais, sendo um dos principais problemas de infertilidade devido à sua grande incidência, o que leva à perda econômica considerável por não alcançar um intervalo entre partos de 12 meses (Montiel & Ahuja, 2005). Para atingir este índice, as vacas devem emprenhar entre 75 e 85 dias após o parto, portanto, técnicas utilizadas para acelerar o retorno da ciclicidade podem causar um impacto positivo na produção de carne bovina em todo o mundo. (Baruselli et al., 2004).

Os principais fatores que afetam a duração do anestro pós-parto em bovinos são o estado nutricional e a amamentação. Outros fatores como, restabelecimento da concentração de LH na hipófise, presença do bezerro ao pé, raça, idade, quantidade

de partos, época de parto, presença do macho, retardo da involução uterina, distocias e estado geral de saúde também influenciam (Montiel & Ahuja, 2005; Pinheiro et al., 2013; Duarte Júnior et al., 2013; Campos et al., 2012; Risques et al., 2020).

Normalmente, o anestro provém de folículos dominantes que não ovulam devido a baixas concentrações de LH. No pós-parto, os estoques de LH estão reduzidos devido ao feedback negativo do E2 no hipotálamo e das elevadas concentrações de P4 no final da gestação. Com a remoção da unidade feto-placentária, as concentrações circulantes de E2 e P4 decrescem abruptamente e permite uma retomada gradual do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. A liberação de FSH se restabelece rapidamente, dentro de duas semanas pós-parto o padrão de crescimento folicular em ondas já pode ser detectado, com a ocorrência de múltiplas ondas foliculares ocorrendo antes da primeira ovulação. Já as concentrações de LH nesse período estão baixas e o retorno à pulsatilidade compatível com a ciclicidade ocorre de maneira gradual nos primeiros 30 dias pós-parto. Entre 15 e 30 pós-parto a responsividade do hipotálamo ao E2 é restabelecida. O primeiro folículo dominante pode maturar e ovular, ou sofrer atresia e ser substituído por um ou mais folículos dominantes subsequentes, ainda inclusive continuar a crescer e tornar-se cístico (Risques et al., 2020; Duarte Júnior et al., 2013).

A condição nutricional das matrizes é de alta relevância na reprodução. Como mediadores nutricionais, podemos citar a glicose, aminoácidos, neuro-hormônios, insulina e IGF-I. Hormônios como a leptina, que são secretados principalmente pelos adipócitos, também tem influência direta na reprodução, agindo no sistema nervoso central e sinalizando sobre o estado nutricional do animal, controlando o consumo alimentar, o balanço energético e o peso corporal do animal (Duarte Júnior et al., 2013). Franco et al. (2016) sugerem que a restrição alimentar leva ao anestro, reduz o tamanho e persistência do FD, como consequência, déficits negativos no desempenho reprodutivo do rebanho. O baixo ECC está relacionado a taxas de crescimento folicular mais lentas, taxas de ovulação mais baixas, menor volume de CL e menor produção de P4 que, por sua vez, impacta negativamente o desenvolvimento embrionário e o reconhecimento materno da gestação (Sales et al., 2016). Campos et al. (2012) concluíram que houve uma tendência das vacas com melhor ECC apresentarem maiores taxas de ciclicidade.

O anestro lactacional não é influenciado unicamente por estímulos na região das glândulas mamárias, mas também por interações sensoriais de reconhecimento materno (visão, audição e olfato). Logo após o parto, a ausência de pulsos de LH ocorre pelo esgotamento das reservas hipofisárias de LH, a mamada só afeta o retorno ao ciclo estral a partir do 20º dia pós-parto, quando as reservas de LH já foram restabelecidas, devido sua baixa pulsatilidade (Risques et al., 2020). O mecanismo exato no qual a mamada e a presença da cria ao pé alteram a função reprodutiva não é bem elucidado, no entanto, essa interação mãe-cria gera comunicações neurais e induz a liberação de hormônios reguladores (opioides endógenos, glicocorticoides, prolactina) que inibe a liberação de GnRH e/ou LH, ou ainda gera uma falta de resposta da hipófise ao estímulo do GnRH (Duarte Júnior et al., 2013; Pinheiro et al., 2013). Risques et al. (2020) enfatizam que a amamentação potencializa o feedback negativo do E2 sobre os centros de liberação de GnRH.

O útero após o parto depende de processos de reparação como migração de linfócitos para o lúmen uterino para fagocitar microrganismos patógenos, liberação de prostaglandina principalmente durante as duas primeiras semanas pós-parto, promovendo contrações do miométrio, expulsão de líquidos e tecidos e secreção de estrógeno anteriormente à primeira ovulação, tornando o útero mais resistente às infecções. Portanto, existe correlação entre a fase de involução uterina e retorno à ciclicidade da fêmea, podendo influenciar na fertilidade (Duarte Júnior et al., 2013).

Com o objetivo de reduzir o bloqueio hormonal endógeno da vaca e, conseqüentemente, os prejuízos causados pelo período prolongado de anestro pós-parto, muitas pesquisas aplicadas à reprodução, têm sido desenvolvidas. O intuito é de antecipar a atividade cíclica e facilitar o manejo de vacas de corte com bezerro ao pé. As soluções encontradas para reduzir esse problema envolvem manejo nutricional, práticas de desmame, identificação de animais mais produtivos por marcadores moleculares e protocolos de IATF (Gonçalves et al., 2015).

2.3 Protocolos de IATF

No estudo realizado por Baruselli et al. (2017) ressalta que dados contidos no Departamento de Reprodução Animal da Universidade de São Paulo demonstraram que em 2015, a IATF movimentou aproximadamente R\$ 567 milhões (~US\$175 milhões) no Brasil, com estimativa de 3.500 veterinários envolvidos. A IATF está atualmente implementada em 8,2 milhões de vacas de corte, gerando um aumento de 8% na produção de bezerros, que representa aproximadamente 656 mil bezerros a mais por ano ou receita de R\$ 820 milhões/ano (~US\$ 253 milhões) a mais em comparação com a criação de monta natural. Como também proporciona intervalos de parto mais curtos e agrega ganho genético aos rebanhos, gerando um ganho médio de 20 kg no peso de desmame dos bezerros. Além disso, do desmame ao abate, os bezerros procedentes da IATF ganham mais 15 kg de carcaça (Baruselli et al., 2017). A IATF tem sido considerada o método mais útil para aumentar o número de vacas inseminadas em um determinado rebanho, com média de prenhez por IATF em torno de 50%. (Bó et al., 2016).

Segundo Bó e Baruselli (2014) a princípio existem dois tipos de protocolos de IATF utilizados atualmente em bovinos de corte, à base de GnRH combinado ou não com DILP, e o outro à base E2 aliado ao DILP. A preferência por um desses protocolos está relacionada com a disponibilidade e custo-benefício desses hormônios em um determinado país. Por exemplo, programas à base de E2 são amplamente utilizados na América do Sul e consistem na inserção de um DILP e a administração de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) no Dia 0 (para induzir atresia folicular e sincronizar emergência da onda folicular), PGF2 α no momento da remoção do DILP nos dias 7, 8 ou 9 (para garantir luteólise) e aplicação subsequente de 1 mg de BE 24 h após a retirada do DILP ou 1 mg de cipionato de estradiol (CE) na retirada do DILP para sincronizar a ovulação. Enquanto programas baseados em GnRH (que induz a ovulação do folículo reiniciando a nova onda folicular) são utilizados na América do Norte e Europa (Bó & Baruselli, 2014). Tratamentos com DILP e E2 podem melhorar o desempenho reprodutivo em vacas *Bos indicus* amamentadas devido ao seu efeito benéfico na frequência de pulso de LH, crescimento folicular e ovulação (Baruselli et al., 2004).

A administração do CE aumentou a ocorrência de estro e taxa de prenhez em vacas *Bos indicus* lactantes submetidas a um protocolo de sincronização baseado em E2 e P4 com IATF, sendo que o estro, com base na remoção da marca de tinta da cauda, foi um fator importante associado a maiores diâmetros foliculares no momento da inseminação, maiores concentrações séricas de P4 durante a fase lútea posterior, e maior taxa de prenhez (Sá Filho et al., 2011). Bosolasco et al. (2021) concluíram que administração de CE na IATF aumenta as concentrações séricas de E2 e tende a induzir maior taxa de ovulação em vacas em anestro pós-parto e, também, afeta as condições pós-ovulatórias, associadas a maiores concentrações de P4 sérica e regulação da expressão de receptor de estrógeno 1 (ESR1) e IGF-I no endométrio uterino.

Além disso, o uso de gonadotrofina coriônica equina (eCG) no momento da retirada do DILP no programa de IATF melhorou as taxas de prenhez e seu efeito foi mais evidente nos casos com anestro mais acentuado. O que viabiliza a implantação de programas de melhoramento genético de forma mais eficiente no gado de corte criado em regiões tropicais (Baruselli et al., 2004). Bó et al. (2016) relatam que provavelmente o efeito mais importante da eCG é no crescimento do folículo dominante e o posterior aumento na taxa de ovulação, principalmente em vacas com baixo ECC e em anestro pós-parto, além de promover aumento das concentrações circulantes de P4 na fase lútea subsequente, isso foi associado a um aumento do diâmetro do CL. Em um estudo realizado por Sales et al. (2016) foi possível observar que, devido ao maior crescimento folicular, as vacas tratadas com eCG tiveram taxas de ovulação mais elevadas, conseqüentemente, maior taxa de prenhez, visto que, os efeitos deste hormônio na dinâmica folicular e na fertilidade foram observados em vacas multíparas e primíparas, mas foram mais pronunciadas em vacas primíparas.

Segundo Oliveira et al. (2011) a taxa de prenhez no final da estação de monta através da IATF utilizando protocolo a base de P4 e E2, foi afetada pela categoria animal, o que indica que as primíparas precisam de uma maior atenção em relação as suas exigências nutricionais e hormonais, para que sua fertilidade não seja comprometida. A diferença entre a paridade e desempenho reprodutivo é provavelmente, devido a uma maior demanda de energia/proteína para o crescimento em vacas primíparas associado à primeira lactação e redução da capacidade de ingestão de matéria seca. Em primíparas, a mobilização de gordura e as

concentrações de ácidos graxos não esterificados (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) são maiores e pode comprometer a pulsatilidade de LH, bem como, crescimento folicular, o que explica a maior taxa de prenhez nas múltíparas mesmo no grupo tratado com P4i (previamente ao protocolo de IATF), em relação às primíparas. Porém em ambas as categorias houve aumento da taxa de prenhez no grupo P4i em relação ao grupo controle indicando responsividade ao tratamento (Simões et al., 2018).

No trabalho realizado por Diniz et al. (2021) o uso de iP4 após o protocolo de IATF à base de P4 e E2 aumentou a taxa de prenhez, independente da categoria animal. Portanto, o uso da P4i pode ser uma alternativa eficaz, principalmente em animais com balanço energético negativo e anestro pós-parto, o que influencia diretamente na reserva de LH, interferindo na ovulação e na formação de um CL competente.

2.4 Suplementação com progesterona

Métodos para regular a ovulação, alterando ou suplementando a liberação endógena de P4 foram investigados extensivamente há mais de 60 anos (Hansel, 1961). Mas a fertilidade de ciclos estrais regulados ainda é variável (Echternkamp & Thallman, 2011). A P4 e seus análogos podem ser utilizados de várias formas em bovinos, via oral na forma de acetato de melengestrol (MGA) (Patterson et al., 2013); implante auricular (Sá Filho et al., 2010); DILP como descrito anteriormente; e na forma injetável de longa ação (Simões et al., 2018; Diniz et al., 2021).

Patterson et al. (2013) relatam que os progestágenos foram usados para induzir o estro em novilhas pré-púberes e foram originalmente combinados com estrógenos para imitar as mudanças que ocorrem nas concentrações de hormônios do sangue na época da puberdade, sendo que, a P4 aumenta durante o início da puberdade na novilha, e antes da retomada da ciclicidade ovariana normal em vacas de corte em lactação no pós-parto.

Uma duração mais curta do proestro em um protocolo de IATF resultou em um menor folículo pré-ovulatório, CL menor e menos funcional, e menor fertilidade. Por

outro lado, uma fase sublútea em meio a concentrações séricas de P4 induz o crescimento final do FD a um maior diâmetro, resultando em um CL maior que secreta mais P4, o que leva a maior taxa de prenhez (Dadarwal et al., 2013).

Segundo Couto et al (2018), a produção de P4 é regulada pelo desenvolvimento do CL após a secreção pulsátil de LH. Para evitar a luteólise, os sinais emitidos pelo conceito durante o reconhecimento materno a gravidez deve ocorrer com sucesso entre o 15^o e o 17^o dia do ciclo estral. A capacidade do conceito de produzir IFN- τ depende de quantidades suficientes de P4, pois estimula a expressão de genes que suportam o desenvolvimento do embrião. Portanto, mais estudos são necessários para avaliar estratégias de suplementação de P4 para diminuir as perdas embrionárias e obter maiores taxas de prenhez. A suplementação de P4 por inserção de DILP ou aplicação intramuscular de P4 promove um aumento na concentração sérica de P4, portanto, o uso de uma dose única de P4i seria uma alternativa simples e de baixo custo, em vez do DILP e/ou repetidas aplicações de P4. (Couto et al., 2018).

2.4.1 Dispositivo intravaginal de liberação de progesterona

Os protocolos de IATF que utilizam um DILP demonstraram aumentar a taxa de penhez em vacas de corte em relação aos protocolos que não utilizam, e está relacionado com a concentração de P4 liberada durante o protocolo, no entanto não influenciou na dinâmica folicular (Zwiefelhofer et al., 2021). Sales et al. (2014) afirmam que as baixas concentrações de P4 de DILP's reutilizados foi suficiente para promover um controle semelhante entre os grupos tratados em relação ao crescimento folicular, ovulação e taxa de prenhez em *Bos indicus*. Ao remover a fonte de P4 exógena ocasiona uma diminuição nas concentrações circulantes de P4, estimula maturação folicular e ovulação (Zwiefelhofer et al., 2021; Patterson et al., 2013).

Em ambos os experimentos realizados por Abreu et al. (2018) em gado da raça Angus (*Bos taurus*), as concentrações de P4 na retirada do DILP (CIDR®) em protocolos à base de GnRH foram, conforme projetado, maiores no grupo de tratamento com maiores concentrações de P4 (HiP4) do que o grupo que receberam

baixas concentrações de P4 (LoP4). Porém, foi constatado que as concentrações relativamente menores de P4 circulante durante o desenvolvimento folicular resultaram em maiores concentrações de E2 e aumento do diâmetro do FD na retirada do DILP (CIDR®) no D 5 (Experimento 1), mas não houve diferença entre os tratamentos no momento da IATF no D 8. Assim como, não influenciou a taxa de prenhez nos dois experimentos (Abreu et al., 2018).

No estudo promovido por Rutigliano et al. (2008), demonstra que vacas de leite pré-sincronizadas com um DILP (CIDR®) e uma injeção de PGF2 α na remoção três dias antes de iniciar o protocolo Ovsynch (à base de GnRH), teve aumento da incidência de ovulação ao primeiro GnRH do protocolo, folículos ovulatórios com maiores concentrações de E2, e uma maior incidência da ovulação dupla até a injeção final de GnRH antes da IATF. A P4 do DILP (CIDR®) bloqueia o pico de LH durante tratamento, que se espera para sincronizar mais precisamente o estro e, posteriormente, a ovulação.

Almeida et al., (2016) relatam que a utilização de um DILP de 4^o uso anterior ao protocolo de IATF à base de P4 e E2 não alterou a dinâmica folicular e taxas de prenhez das vacas mestiças (*Bos taurus* x *Bos indicus*) no período pós-parto dos grupos avaliados, mas influenciou as taxas de prenhez das múltiparas em relação às primíparas. Verifica-se que, para as vacas múltiparas, a taxa de prenhez do grupo da pré-sincronização hormonal foi superior quando comparada com as demais.

2.4.2 Progesterona injetável

Os efeitos embriotróficos estimulados por P4 melhoraram fertilidade em vacas de corte em anestro pós-parto suplementadas com 150 mg de P4i quatro dias após a IATF, notavelmente, a suplementação de P4 após a ovulação no início do diestro pode atenuar os efeitos negativos de folículos pré-ovulatórios e CL menores (Pugliesi et al., 2016). Corroborando com Diniz et al. (2021), os quais relatam que além de influenciar positivamente a taxa de prenhez, redução de perdas gestacionais também são atribuídas ao tratamento com P4i quatro dias após a IATF. Apesar de que, efeitos benéficos da suplementação com P4i depende de alguns fatores como ECC, sendo

assim, o bom ECC dos animais utilizados no experimento pode ter potencializado a ação da P4i (Diniz et al., 2021).

O uso de P4i cinco dias após a IATF em vacas da raça Nelore aumentou a taxa de prenhez além de diminuir significativamente as perdas gestacionais, mas não quando suplementado onze dias após a IATF. Esses resultados indicam que pode ser uma alternativa interessante para aumentar a eficiência reprodutiva, mas ainda são necessários mais estudos para encontrar o melhor momento em que a P4 exógena pode ser aplicada e seu real efeito na viabilidade do CL (Couto et al., 2018).

No entanto, Martins et al. (2018) demonstraram que a administração de P4i três dias após a IATF reduziu o crescimento do CL e acelerou o intervalo para a luteólise estrutural e funcional. Portanto, a sinalização do conceito não conseguiu superar o estímulo luteolítico precoce desencadeado pela suplementação de P4, que ocorreu entre os dias 14 e 15 após a IATF (Martins et al., 2018).

No estudo feito por Simões et al. (2018) com *Bos indicus*, a administração intramuscular de 150 mg de P4i dez dias antes do início do protocolo de IATF à base de P4 e E2 aumentou o diâmetro folicular no D 0 e no dia da retirada do DILP (D 8), como também, a taxa de prenhez em vacas *Bos indicus* lactantes, provavelmente devido à melhor qualidade oocitária adquirida durante o seu desenvolvimento e pulsatilidade adequada do LH em resposta à P4 (Simões et al., 2018). Além disso, manteve a concentração de P4 acima de 1,5 ng/mL por 7 dias, demonstrando que o tratamento foi eficaz no aumento da concentração sérica de P4. Vacas que apresentavam ECC inferiores a 2,5 (escala 1 a 5) tiveram as menores taxas de prenhez, portanto, um baixo ECC no início do protocolo de IATF foi correlacionado com uma menor resposta ao tratamento (Simões et al., 2018).

Contudo, em outro trabalho envolvendo a mesma equipe realizado por Santos et al. (2018), utilizando vacas da raça Nelore em lactação com ECC adequado (~3,0), um tratamento prévio ao protocolo de IATF com P4i na mesma dosagem utilizada por Simões et al. (2018) não melhorou a taxa de prenhez. Provavelmente essa diferença na fertilidade após tratamento com P4 é devido à condição corporal e nutricional dos animais envolvidos nos diferentes estudos (Sales et al., 2019).

3 HIPÓTESES

Hipótese nula (H_0): A exposição prévia à P4i não altera a taxa de prenhez e a dinâmica folicular em vacas Nelore submetidas ao protocolo de IATF baseado em P4 e E2.

Hipótese alternativa (H_a): A exposição prévia à P4i altera a taxa de prenhez e a dinâmica folicular em vacas Nelore submetidas ao protocolo de IATF baseado em P4 e E2.

4 OBJETIVO

O objetivo do projeto é avaliar a aplicação de P4i em vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) no período pós-parto dez dias antes do início do protocolo de IATF à base de P4 e E2, no crescimento folicular, assim como, na taxa de prenhez com o auxílio da US.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Animais

A coleta de dados foi realizada em duas propriedades distintas, Fazenda Cofril localizada no município de Cachoeiro de Itapemirim – ES região sudeste do Brasil (20°52'23.8" S 41°15'58.9" W) e Fazenda Vitoria Régia localizada no estado de Rondônia região norte do país (11°43'27.3" S 62°27'50.3" W), no período de outubro de 2021 a janeiro de 2022. Em ambos os estabelecimentos as vacas eram mantidas em regime de pasto (sistema extensivo) composto principalmente por *Brachiaria sp.*, com fornecimento de sal mineral/água *ad libitum* e, vacinado anualmente contra raiva, clostridioses, febre aftosa, e, fêmeas de 3 a 8 meses contra brucelose.

Foram utilizadas 436 matrizes da raça Nelore (*Bos indicus*) de quatro a seis anos de idade, peso médio aproximado de 450kg, no período de 30 a 60 dias pós-parto, aptas à reprodução e clinicamente híginas, sendo 253 múltíparas e 183 primíparas que apresentavam ECC entre 2,5 e 4,5 (escala de 1-5, Ferguson et al., 1994) no início do protocolo de IATF. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha (CEUA-UVV) sob o processo nº. 619-2022.

5.2 Delineamento experimental

As vacas foram divididas em dois grupos aleatoriamente, grupo P4i que receberam aplicação de P4i (Sincrogest®) na dose de 150 mg dez dias antes (D -10) do início do protocolo de IATF, e, grupo Controle que não recebeu nenhum tratamento anterior ao protocolo. Ambos os grupos foram sincronizados no dia 0 (D 0) com aplicação intramuscular de 2 mg de BE (Sincrodiol®) e inserção do DILP (Repro neo®) contendo 1 g de P4. No dia 8 (D 8) aplicação intramuscular de 1 mg de CE (Cipion®); 300 U.I. de eCG (Ecegon®); 0,5 mg de cloprostenol sódico (Induscio®) substância

análoga à PGF2 α ; e retirada do DILP. No dia 10 (D 10) foi realizada IATF como demonstrado na Figura 1.

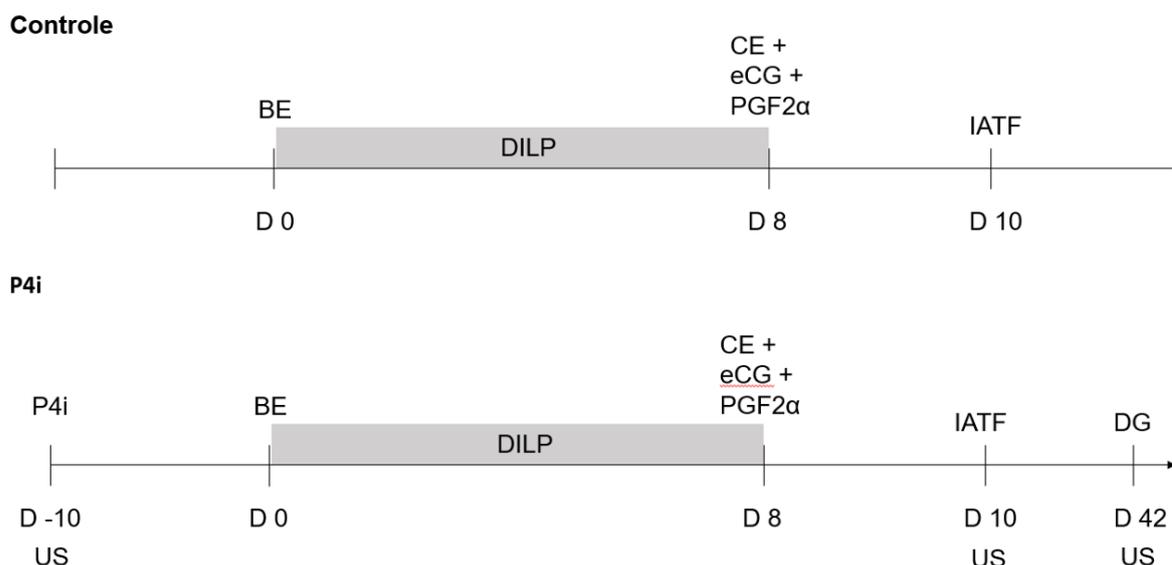


Figura 1. Delineamento experimental – Protocolos de IATF grupo P4i / grupo Controle, ultrassonografia (US) e diagnóstico de gestação (DG).

No D 10, em 53 multíparas e 7 primíparas foi realizado US para mensurar o diâmetro do FD utilizando o aparelho Mindray DP10 Power. A manifestação do estro foi observada através da marcação de tinta na inserção da cauda no D 10. Todas as vacas foram inseminadas com sêmen de Nelore Touro Doutor Terra Brava. O diagnóstico de gestação de todo rebanho foi realizado através da utilização do mesmo modelo de ultrassom 32 dias após à IATF.

5.3 Análises estatísticas

Os testes foram realizados no software GraphPad Prism version 8.4 para Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA. Todos os dados analisados foram submetidos aos testes de normalidade e de homoscedasticidade. Os testes de Shapiro & Wilk e o de Kolmogorov & Smirnov avaliaram se a distribuição de probabilidade dos dados é a normal enquanto o teste de Levene avaliou a homoscedasticidade, ou seja, se as variáveis entre os grupos são iguais.

A regressão logística binária foi utilizada para medir a associação entre prenhez (variável dependente), ECC, paridade e grupos. A razão de chances (*ODDs Ratio*) foi utilizada para determinar a força e a direção das associações. Em todas as análises, um valor de $p < 0,05$ foi usado para significância estatística. Para comparação entre o tamanho do diâmetro folicular foi realizado o teste t de *student* para amostras independentes. Foi considerado como significativo em todas as análises quando $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

Do total de 436 matrizes 52,75 % foram diagnosticadas prenhas e 47,24 % vazias. Na análise feita entre os grupos, a taxa de prenhez foi maior nas vacas do grupo Controle em comparação com o grupo P4i, 54,8 % e 45,2 % respectivamente (Figura 2), as diferenças encontradas foram consideradas significativas ($p < 0,05$).

Em relação à categoria animal, a taxa de prenhez foi maior nas multíparas (64,8 %) em comparação com as primíparas (35,2 %), houve diferença significativa ($p < 0,05$) (Figura 3).

As multíparas do grupo Controle apresentaram uma taxa de prenhez mais elevada (65,1 %) em relação ao grupo P4i da mesma categoria animal (64,4 %), já nas primíparas do grupo P4i a taxa de prenhez foi maior (35,6 %) em relação ao grupo Controle da mesma categoria animal (34,9 %), porém não diferiu significativamente ($p > 0,05$) (Figura 4).

Ao analisar a taxa de prenhez em relação ao ECC não houve diferença significativa ($p < 0,05$), entretanto vacas com $ECC \geq 2,0 < 3,0$ apresentaram 49,8 % de prenhez, enquanto vacas com $ECC \geq 3,0 < 4,0$ apresentaram 56,2 %, e vacas com $ECC \geq 4,0$ 62,5 % (Figura 5).

Na avaliação do crescimento folicular, com auxílio da US no D 10 do protocolo de IATF à base de P4 e E2, o diâmetro médio do FD obtido com as análises foi de 15,08 mm (vacas prenhas) e 15,67 mm (vazias), porém essa diferença encontrada não foi considerada significativa ($p > 0,05$) (Figura 6). Assim como, não houve diferença ($p > 0,05$), quando a comparação foi entre os grupos Controle (15,33 mm) e P4i (15,16 mm) (Figura 7).

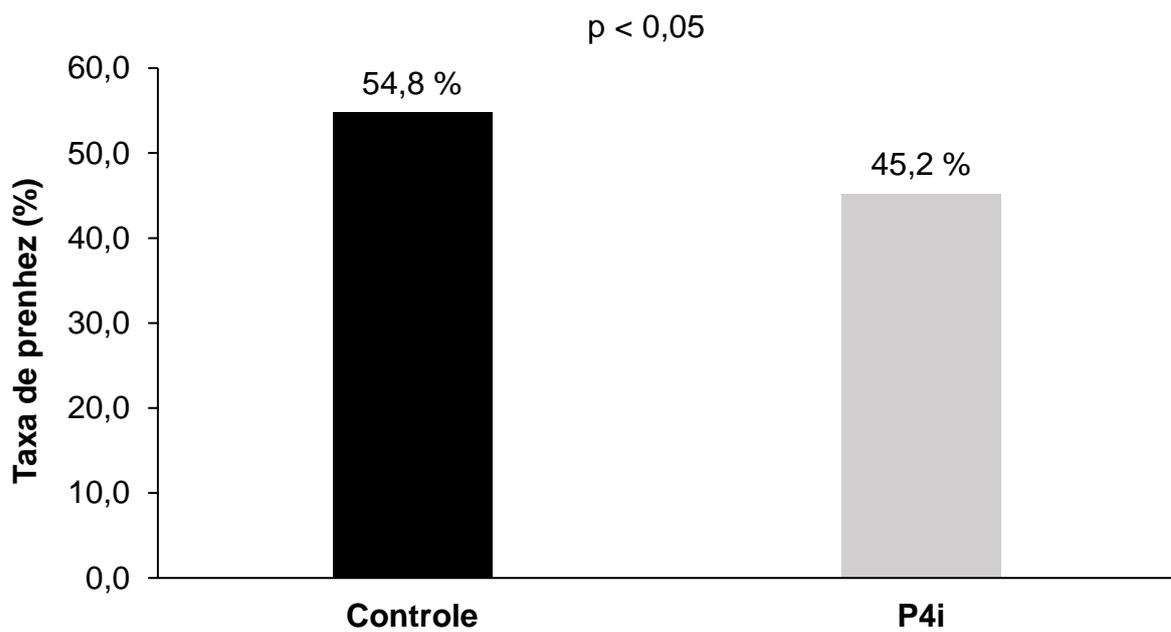


Figura 2. Taxa de prenhez (%) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de IATF baseado em E2 e P4. Comparação entre os grupos Controle e P4i. A diferença foi considerada estatisticamente significativa $p < 0,05$.

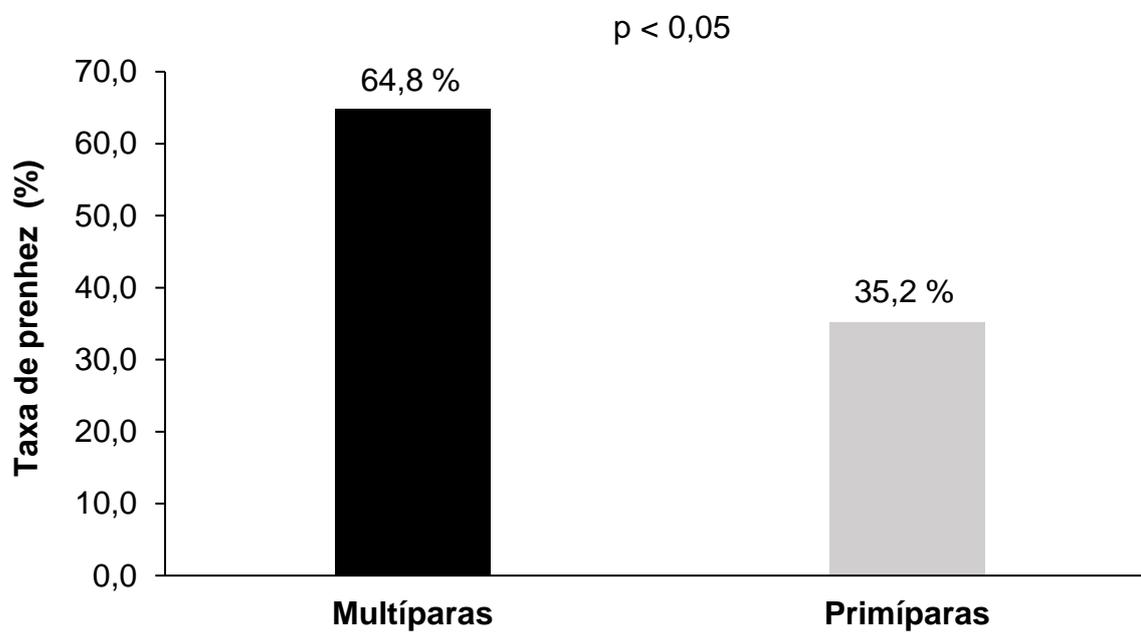


Figura 3. Taxa de prenhez (%) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de IATF baseado em E2 e P4. Comparação entre categoria animal (Múltiparas e Primíparas). A diferença foi considerada estatisticamente significativa $p < 0,05$.

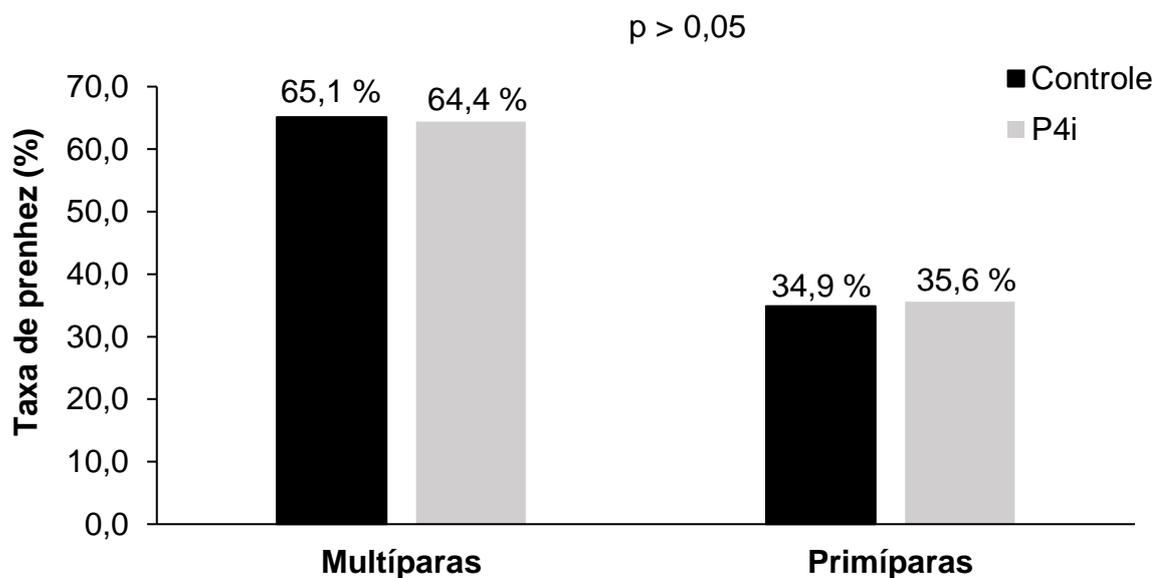


Figura 4. Taxa de prenhez (%) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de IATF baseado em E2 e P4. Comparação entre os grupos Controle e P4i em relação à categoria animal (Multíparas e Primíparas). Não houve diferença significativa $p > 0,05$.

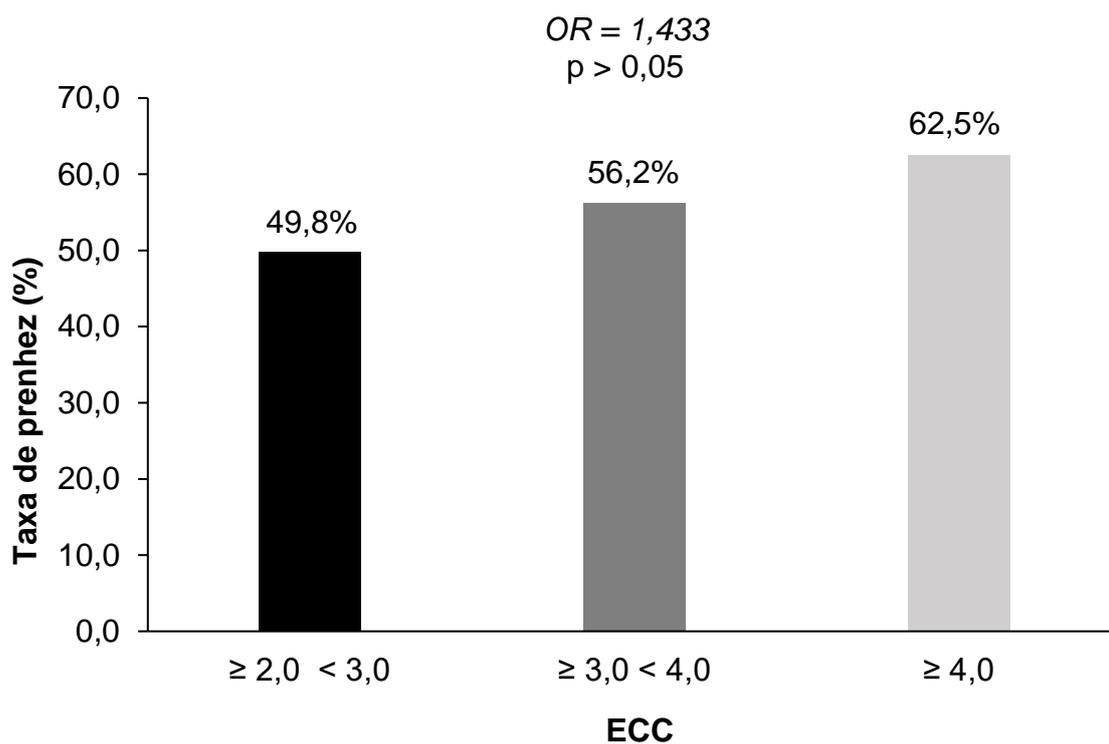


Figura 5. Taxa de prenhez (%) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de IATF baseado em E2 e P4 em relação com o ECC (≥ 2,0 < 3,0; ≥ 3,0 < 4,0; e ≥ 4,0). Não houve diferença significativa $p > 0,05$. OR (ODDS Ratio) = 1,433.

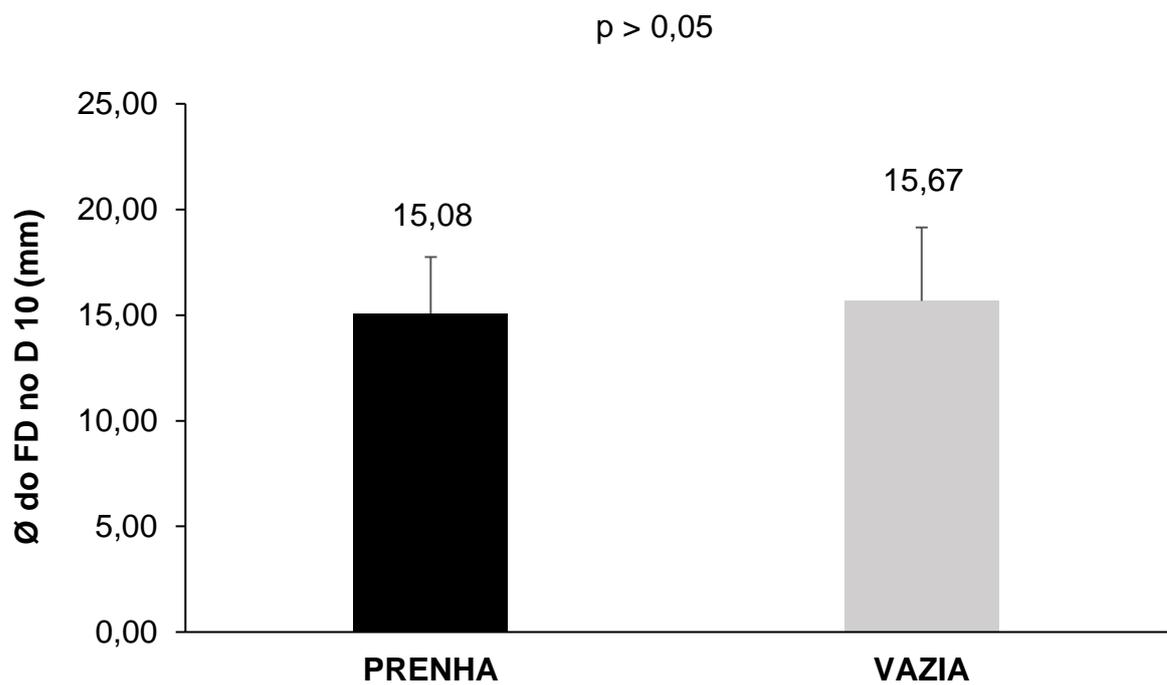


Figura 6. Diâmetro (\emptyset) do folículo dominante (FD) no D 10 do protocolo de IATF em vacas Nelore (*Bos indicus*). Comparação entre as médias de acordo com o diagnóstico de gestação (vacas prenhas e vazias). Não houve diferença significativa $p > 0,05$.

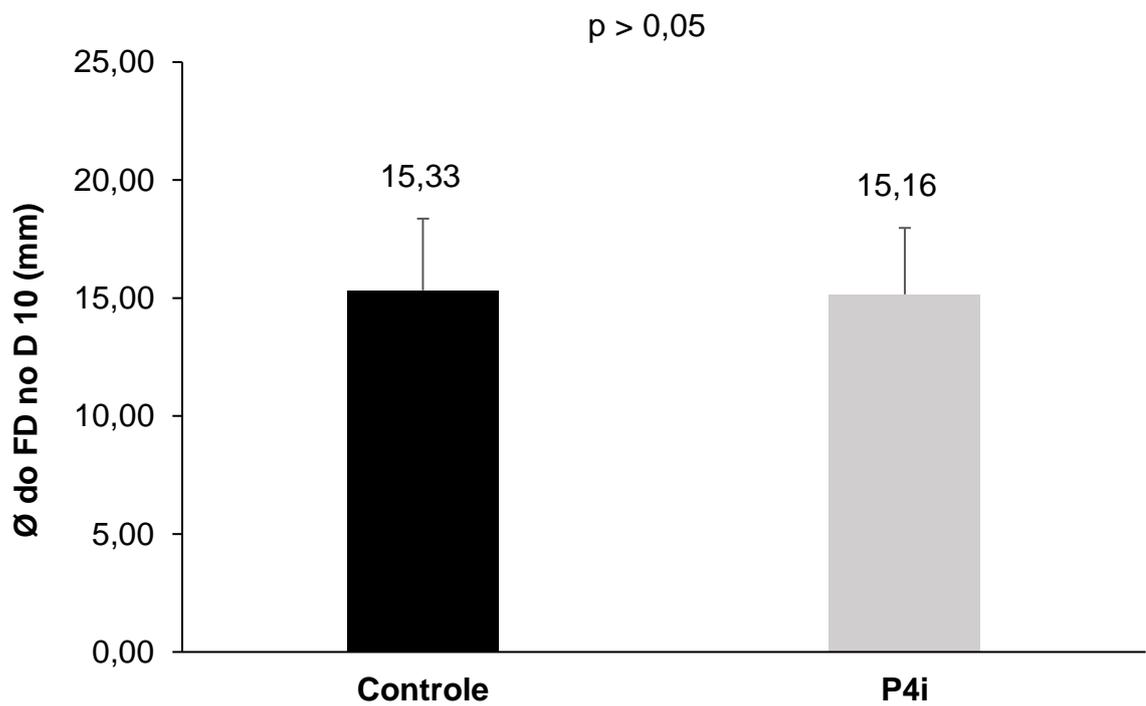


Figura 7. Diâmetro (\emptyset) do folículo dominante (FD) no D 10 do protocolo de IATF em vacas Nelore (*Bos indicus*). Comparação entre os grupos Controle e P4i. Não houve diferença significativa $p > 0,05$.

7 DISCUSSÃO

Os dados obtidos nessa pesquisa demonstraram que o tratamento prévio com 150 mg de P4i (dez dias antes) ao protocolo de IATF à base de P4 e E2, pode não ser uma alternativa eficiente para aumentar a fertilidade em vacas Nelore (*Bos indicus*) em lactação, pois a taxa de prenhez geral do rebanho foi maior no grupo Controle com diferença significativa ($p < 0,05$) de 9,6% em relação ao grupo P4i. Em relação ao crescimento folicular não houve diferença estatística ($p > 0,05$) quando comparado o diâmetro médio do FD no dia da IATF (D 10) entre vacas prenhas (15,08 mm) e vazias (15,67 mm), e, entre vacas do grupo Controle (15,33 mm) e P4i (15,16 mm).

No entanto, em um estudo realizado por Simões et al. (2018) em vacas Nelore e utilizando o mesmo tratamento com protocolo de IATF semelhante, a exposição prévia à P4i aumentou o diâmetro folicular no D 0 e no dia da retirada do DILP (D 8), como também, a taxa de prenhez. Provavelmente devido à melhor qualidade oocitária adquirida durante o seu desenvolvimento e pulsatilidade adequada do LH em resposta à P4. Contudo, o crescimento folicular final, o diâmetro do FD na IATF (D 10) e a taxa de ovulação não foram influenciados ($p > 0,05$) pelo tratamento anterior com P4i (Simões et al., 2018). Ainda incita que o eCG fornecido no dia da remoção do DILP, pode ter interferido nos resultados do crescimento folicular final e taxa de ovulação, beneficiando as vacas do grupo Controle, devido ao suporte gonadotrófico disponibilizado ao folículo.

Provavelmente o efeito mais importante da eCG é no crescimento do FD e o posterior aumento na taxa de ovulação, principalmente em vacas com baixo ECC e em anestro pós-parto, além de promover aumento das concentrações circulantes de P4 na fase lútea subsequente, isso foi associado a um aumento do diâmetro do CL (Bó et al, 2016). Esse destaque da eCG no desenvolvimento folicular indica o possível motivo pelo qual o tratamento prévio com P4i não foi tão eficiente quanto esperado nesta pesquisa.

De acordo com Montiel e Ahuja (2005) vacas *Bos indicus* apresentam anestro pós-parto prolongado, atribuído à falha na ovulação do FD e à baixa frequência nos pulsos de LH. Concentrações de P4 circulantes podem controlar a pulsatilidade do

LH, crescimento folicular final e a resposta da ovulação em bovinos (Sales et al., 2014). Simões et al. (2018) relatam que a P4 estimula a pulsatilidade do LH pela redução dos receptores de E2 hipotalâmicos e, conseqüentemente, o feedback negativo estrogênico sobre a secreção de GnRH. A nutrição, a amamentação e a presença do bezerro são os principais fatores que interferem na síntese e liberação de GnRH, já que, o baixo ECC e o vínculo com a prole influenciam negativamente a liberação de LH durante pós-parto, promovendo a liberação de metabólitos e hormônios, que produzirão um feedback negativo bloqueando o GnRH hipotalâmico (Montiel & Ahuja, 2005; Pinheiro et al., 2013; Duarte Júnior et al., 2013; Campos et al., 2012; Risques et al., 2020).

Segundo Oliveira et al. (2011) a taxa de prenhez em vacas Nelore através da IATF utilizando protocolo à base de P4 e E2, foi afetada pela categoria animal (88,1 % multíparas e 42,9 % primíparas), assim como no presente estudo onde os resultados apresentaram uma diferença significativa de 29,6 % maior nas multíparas em relação às primíparas, o que indica que as primíparas precisam de uma maior atenção em relação as suas exigências nutricionais e hormonais, para que sua fertilidade não seja comprometida. Em primíparas, a mobilização de gordura e as concentrações de ácidos graxos não esterificados (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) são maiores e pode comprometer a pulsatilidade de LH, bem como, crescimento folicular, o que explica a maior taxa de prenhez nas multíparas mesmo no grupo tratado com P4i (previamente ao protocolo de IATF), em relação às primíparas (Simões et al., 2018).

Os progestágenos foram utilizados para induzir o estro em novilhas pré-púberes e foram originalmente combinados com estrógenos para imitar as mudanças que ocorrem nas concentrações hormonais séricas no período da puberdade. Acredita-se que o aumento da P4 seja um pré-requisito para o desenvolvimento de ciclos estrais normais. A P4 aumenta durante o início da puberdade na novilha, e antes da retomada da ciclicidade ovariana normal, estro e ovulação em novilhas de corte como em vacas lactantes no pós-parto. Além disso, melhorias na resposta de indução puberal após o tratamento com uma progestina ocorrem com o aumento da idade (Patterson et al., 2013).

Quando a comparação foi entre os grupos Controle e P4i em relação à categoria animal (Multíparas e Primíparas), as primíparas do grupo P4i apresentaram uma taxa de prenhez mais elevada (35,6 %) em relação às primíparas do grupo Controle (34,9 %), nas multíparas foi encontrado a mesma diferença na fertilidade entre os grupos (0,7 %) contudo foi maior no grupo Controle (65,1 %) em comparação com o grupo P4i (64,4 %), porém as diferenças não foram consideradas significativas $p > 0,05$.

Em um estudo realizado por Sales et al. (2016) foi possível observar que devido ao maior crescimento folicular, as vacas tratadas com eCG tiveram taxas de ovulação mais elevadas, conseqüentemente, maior taxa de prenhez, visto que, os efeitos deste hormônio na dinâmica folicular e na fertilidade foram observados em vacas multíparas e primíparas, mas foram mais pronunciadas em vacas primíparas. Levando em consideração que em ambos os grupos (Controle e P4i) do presente projeto, a molécula de eCG foi utilizada, sugere-se que não houve resposta ao tratamento com P4i em vacas Nelore. Contudo, nos resultados encontrados por Simões et al., (2018) tanto em multíparas quanto em primíparas houve aumento da taxa de prenhez no grupo P4i em relação ao grupo Controle indicando responsividade ao tratamento independente da categoria animal. De acordo com Sales et al. (2019) na pesquisa realizada por Simões (dados não publicados), a associação de eCG com P4i antes do protocolo de IATF aumentou o diâmetro folicular. No entanto, o uso de P4i sem a administração de eCG resultou em menor taxa de prenhez, contudo houve um ganho aditivo na fertilidade com a associação de eCG e P4i antes do protocolo.

Apesar das diferenças encontradas no presente projeto entre a taxa de prenhez entre escalas distintas de ECC, não serem consideradas estatisticamente significativas ($p > 0,05$), aumenta em 1,43 vezes ($OR = 1,433$) a chance de engravidar à medida que o ECC se elevou em um ponto na escala, quando $\geq 2,0 < 3,0$; $\geq 3,0 < 4,0$; e $\geq 4,0$ apresentaram 49,8 %; 56,2 %; e 62,5 % de fertilidade, respectivamente. Vacas que apresentavam ECC inferiores a 2,5 (escala 1 a 5) tiveram as menores taxas de prenhez, portanto, um baixo ECC no início do protocolo de IATF foi correlacionado com uma menor resposta ao tratamento (Simões et al., 2018).

Em outro trabalho realizado por Santos et al. (2018), utilizando vacas da raça Nelore em lactação com ECC adequado ($\sim 3,0$), um tratamento prévio ao protocolo de

IATF com P4i na mesma dosagem utilizada por Simões et al. (2018) não melhorou a taxa de prenhez, assim como na presente pesquisa. Provavelmente essa diferença na fertilidade após tratamento com P4i é devido à condição corporal e nutricional dos animais envolvidos nos diferentes estudos (Sales et al., 2019). Devido à amamentação e/ou baixo ECC, ocorre uma interação entre glicocorticoides, leptina, E2 e neuro-hormônios (opioides e neuropeptídeo Y) inibindo os pulsos do GnRH e, conseqüentemente, de LH durante o pós-parto em bovinos de corte (Gonçalves et al., 2015; Sales et al., 2019), ou ainda gera uma falta de resposta da hipófise ao estímulo do GnRH (Duarte Júnior et al., 2013; Pinheiro et al., 2013). Risques et al. (2020) enfatizam que a amamentação potencializa o feedback negativo do E2 sobre os centros de liberação de GnRH.

O baixo ECC está relacionado a taxas de crescimento folicular mais lentas, taxas de ovulação mais baixas, menor volume de CL e menor produção de P4 que, por sua vez, impacta negativamente o desenvolvimento embrionário e o reconhecimento materno da gestação (Sales et al., 2016). Campos et al. (2012) concluíram que houve uma tendência das vacas com melhor ECC apresentarem maiores taxas de ciclicidade.

8 CONCLUSÃO

A administração de 150 mg de P4i dez dias antes do início do protocolo de IATF não alterou o diâmetro do FD no dia da IATF. A taxa de prenhez foi maior no grupo Controle quando comparado com grupo P4i, porém não houve diferença quando comparada entre os grupos (Controle e P4i) da mesma categoria animal (Multíparas e Primíparas). Em relação ao ECC, apesar dos resultados não serem considerados significativos, a cada ponto na escala (1 a 5) aumenta 1,43 vezes a chance de prenhez. A categoria animal influenciou a fertilidade sendo maior nas multíparas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, F.M. et al. Role of progesterone concentrations during early follicular development in beef cattle: II. Ovulatory follicle growth and pregnancy rates. *Animal Reproduction Science*, <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.06.011>, 2018.
- Adams, G.P. et al. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, v. 69, p. 72–80, 2008.
- Baruselli, P. S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v. 82–83, p. 479–486, 2004.
- Baruselli, P. S. et al. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Anim. Reprod.*, v.14, n.3, p. 558-571, Jul/Set, 2017.
- Bó, G. A.; Baruselli P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal*, v. 8:s1, p. 144–150, 2014.
- Bó, G. A. et al. Alternative programs for synchronizing and re-synchronizing ovulation in beef cattle. *Theriogenology*, doi: 10.1016/ j. theriogenology.2016.04.053, 2016.
- Bosolasco, D. et al. Estradiol cypionate administered at the end of a progesterone-based protocol for FTAI induces ovulation and improves postovulatory luteal function and uterine environment in anestrus beef cows. *Theriogenology*, v. 162, p. 74-83, 2021.
- Campos, C. C. et al. Condição ovariana de vacas holandesas no início do programa reprodutivo. *Vet. Not.*, Uberlândia, v.18. n. 2 (supl.), p. 145-147, Jul-dez. 2012.
- CEPEA, PIB do agronegócio brasileiro <Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>><Acesso em 28/04/2022>.
- Couto, S. R. B. et al. Impact Of Supplementation With Long-Acting Progesterone On Gestational Loss In Nelore Females Submitted To Tai. *Theriogenology*, doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.10.032, 2018.

Dadarwal, D. et al. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*, v. 79, p. 859–866, 2013.

de Almeida, Í. C. et al. Protocolo de pré-sincronização hormonal em vacas mestiças no período pós-parto. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 38(4), p. 353-357, out/dez, 2016.

de Lima, M. A. et al. Ovarian follicular dynamics, progesterone concentrations, pregnancy rates and transcriptional patterns in *Bos indicus* females with a high or low antral follicle count. *Scientific Reports*, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76601-5>, 2020.

Diniz, J. V. A. et al. Influência da progesterona injetável na taxa de prenhez e perda gestacional de fêmeas nelore de distintas categorias reprodutivas submetidas a inseminação artificial em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 49, p. 1828, 2021.

Duarte Júnior, M. F. et al. Aspectos relacionados à fisiologia do anestro pós-parto em bovinos. *Colloquium Agrariae*, v. 9, n.2, p. 43-71, Jul-dez, 2013.

EMBRAPA, A pecuária de corte mundial em números. Boletim CiCarne ano 2/2021 <Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/63741276/a-pecuaria-de-corte-mundial-em-numeros>><Acesso em 28/04/2022>.

Echternkamp, S. E.; Thallman, R. M. Factors affecting pregnancy rate to estrous synchronization and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Journal of Animal Science*, v. 89, p. 3060-3068, 2011.

Franco, G. L.; Faria, F. J. C.; D'Oliveira, M. C. Interação entre nutrição e reprodução em vacas de corte. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 37, n. 292, p. 36-53, 2016.

Ferguson, J. D.; Galligan, D. T.; Thomsen, N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v. 77, n. 9, p. 2695-2703, 1994.

Figueiredo, R. A. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*, v. 47, p. 1489-1505, 1997.

Giordano, J. O. et al. Effect of presynchronization with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone 7 days before resynchronization of ovulation on

fertility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 95, n. 10, p. 5612–5625, 2012.

Gonçalves, P. B. D. et al. Anestro pós-parto em vacas de corte. *Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada)*, 2015.

Hansel, W. Estrous cycle and ovulation control in cattle. *Journal of Dairy Science*, Symposium: Recent Advances in Reproductive Efficiency, p. 2307-2313, 1961.

Martins, T. et al. Supplementation with long-acting progesterone in early diestrus in beef cattle: I. Effect of artificial insemination on onset of luteolysis. *Domestic Animal Endocrinology*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2018.12.002>, 2018.

Martinez, I.Y.H. et al. Molecular and endocrine factors involved in future dominant follicle dynamics during the induction of luteolysis in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, doi: [10.1016/j.theriogenology.2018.01.019](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.01.019), 2018.

Montiel, F.; Ahuja, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*, v. 85, p. 1–26, 2005.

Morotti, F. et al. Ovarian follicular dynamics and conception rate in *Bos indicus* cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.001>, 2017.

Neves, J. P.; Miranda, K. L.; Tortorella, R. D. Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.414-421, 2010.

Oliveira, V. S. A.; Bonato, G. L.; dos Santos, R. M. Eficiência reprodutiva de vacas primíparas da raça Nelore. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 39(2), p. 963, 2011.

Patterson, D. J. et al. Control of Estrus and Ovulation in Beef Heifers. *Vet. Clin. Food Anim.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.07.009>, 2013.

Pinheiro, V. G. et al. Evaluation of the hypothalamus–pituitary axis response to exogenous GnRH, estradiol benzoate, and LH during the postpartum period in Nelore cows. *Theriogenology*, v. 79, p. 797-802, 2013.

Pugliesi, G. et al. Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Theriogenology*, p. 1-10, 2016.

Risques, P. et al. Influência da amamentação e anestro pós-parto na eficiência reprodutiva da fêmea bovina. *PUBVET*, v. 14, n. 11, a 699, p. 1-9, novembro, 2020.

Rutigliano, H. M. et al. Effects of Method of Presynchronization and Source of Selenium on Uterine Health and Reproduction in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, v. 91, n. 9, p. 3323–3336, 2008.

Sá Filho, M. F. et al. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Animal Reproduction Science*, v. 120, p. 23–30, 2010.

Sá Filho, M. F. et al. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology*, v. 76, p. 455–463, 2011.

Sales, J.N.S. et al. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time AI on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. *Theriogenology*, doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.12.009, 2014.

Sales, J.N.S. et al. Effects of eCG are more pronounced in primiparous than multiparous *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*, doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.07.023, 2016.

Sales, J.N.S. et al. Pre-TAI protocol strategies to increase reproductive efficiency in beef and dairy cows. *Anim. Reprod.*, v. 16, n. 3, p. 402-410, Jul/Set, 2019.

Santos, A. P. C. et al. Effect of pre-exposition to injectable long acting progesterone on pregnancy rates of suckled beef cows submitted to the estrous synchronization protocol. *Anim. Reprod.*, v. 15, p. 328, 2018.

Simões, L. M. S. et al. Exposure to progesterone previous to the protocol of ovulation synchronization increases the follicular diameter and the fertility of suckled *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, v. 116, p. 28-33, 2018.

Tortorella, R. D. et al. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. *Theriogenology*, v. 79, p. 1204–1209, 2013.

Zwiefelhofer, E.M. et al. Comparison of two intravaginal progesterone-releasing devices in shortened-timed artificial insemination protocols in beef cattle. *Theriogenology*, v. 168, p. 75-82, 2021.